ÉTUDE PAR LA RÉACTION D'IMMUNOFLUORESCENCE DES ANTICORPS DIRIGÉS CONTRE LES ANTIGÈNES DE L'ÉPITHÉLIUM INTESTINAL DE *SCHISTOSOMA MANSONI*

V. Modulation de la réaction granulomateuse autour de l'œuf sous l'influence d'un anticorps monoclonal de classe IgM

H. BOISSEAU, R. BEN YOUNES, M. APPRIOU,
J. TRIBOULEY-DURET, J. TRIBOULEY*

RÉSUMÉ

La réaction granulomateuse périovulaire est diminuée *in vivo* par un anticorps monoclonal de classe IgM. La diminution de la réaction granulomateuse est retrouvée tant chez des souris n'ayant jamais été en contact avec le parasite, que chez des souris infestées ou chez des souris sensibilisées par l'injection d'œufs par voie intrapéritonéale.

L'action sur le granulome pourrait s'expliquer par une diminution de la viabilité de l'œuf, l'anticorps monoclonal ayant une action létale sur des miracidiums en suspension *in vitro*.

SUMMARY: Study of fluorescent antibodies directed against the gut epithelium of *Schistosoma mansoni*. V. Egg granuloma modulation by an IgM monoclonal antibody.

The periovarian granulomatous reaction has been reduced *in vivo* by an IgM monoclonal antibody. The granulomatous reaction has been obtained either in unsensitized, or sensitized as well as immunized mouse.

The granulomatous reduction could be explained by a decrease in egg viability, owing to the fact that the monoclonal antibody is lethal against an *in vitro* miracidium suspension.

Les principales manifestations pathologiques de l'infestation par *Schistosoma mansoni* sont dues aux réactions granulomateuses déclenchées par les œufs du parasite déposés dans les tissus. Il a été montré depuis longtemps que cette réaction est due à la mise en jeu de mécanismes immunologiques, les antigènes sécrétés par le miracidium déclenchant une réaction immunitaire principalement à médiation cellulaire de type hypersensibilité retardée (8). La réaction évolue dans le temps au cours de l'infestation et son intensité paraît modulée par différents facteurs cellulaires mais aussi humoraux.

On se propose au cours de ce travail de préciser le rôle éventuel d'un anticorps monoclonal de classe IgM sur le développement du granulome périovulaire. L'anticorps

étudié est dirigé contre un épitope de l'épithélium intestinal du Ver adulte, épitope de nature glucidique également présent à d'autres stades évolutifs du parasite et particulièrement abondant au niveau de l'œuf (2).

Les résultats rapportés dans le présent travail montrent que l'IgM étudiée diminue la réaction granulomateuse périovulaire, chez la souris neuve, n'ayant jamais été en contact avec le parasite, de même que chez la souris en état d'immunité acquise à la suite d'une primo-infestation ou chez la souris sensibilisée par l'injection d'œufs par voie intrapéritonéale. Une des hypothèses avancées est que l'anticorps monoclonal étudié diminue la viabilité de l'œuf; en effet, il exerce une action létale sur des miracidiums en suspension *in vitro*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

MATÉRIEL UTILISÉ

Anticorps monoclonal

L'anticorps monoclonal utilisé est un anticorps de classe IgM dirigé contre une structure antigénique polysaccharidique de l'épi-

* Laboratoire d'Immunologie et Biologie Parasitaire (P^r TRIBOULEY), Faculté de Médecine Paul Broca, Université de Bordeaux II, 146, rue Léo-Saignat, F 33076 Bordeaux Cedex et Laboratoire d'Immunologie, (P^r J. TRIBOULEY-DURET), Faculté de Pharmacie, Université de Bordeaux II, 3, Place de la Victoire, F 33076 Bordeaux Cedex.

Accepté le : 4 mars 1993.

thélium intestinal du ver adulte. Il est produit par un hybridome sélectionné au laboratoire suivant le protocole précédemment décrit (2) et entretenu en culture sur milieu Iscove (Gibco) additionné de 10 % de sérum de veau fœtal (IBF), à 37° C (sous 5 % de CO₂). La production d'anticorps *in vivo* est obtenue par l'injection de l'hybridome à des souris BALB/c traitées au préalable par du Pristane à raison de 0,5 ml par souris par voie intrapéritonéale. Au bout de 7 jours, les souris sont inoculées avec 10⁶ à 10⁷ cellules hybrides. Il se développe une réaction ascitique et lorsque l'abdomen atteint un certain volume (dans un délai de 10 à 12 jours en moyenne), le liquide d'ascite est recueilli. L'anticorps est ensuite purifié par filtration du surnageant de culture ou du liquide d'ascite sur gel de Séphacryl S 300-HR. L'anticorps monoclonal purifié ainsi obtenu est ensuite concentré sur cellule Amicon équipée d'une membrane Diaflo XM 300 (3).

Oufs, miracidiums

Les différents stades évolutifs du parasite sont obtenus à partir de la souche LE Belo Horizonte de *Schistosoma mansoni* entretenue au laboratoire sur Hamster, le mollusque *Biomphalaria glabrata* servant d'hôte intermédiaire. Une suspension d'œufs purifiée est préparée par centrifugation d'un broyat de foies de Hamsters infestés contre une barrière de densité constituée par une solution de Percoll (Pharmacia Fine Chemicals) à 20 % suivant un protocole que nous avons déjà décrit (5). Les miracidiums sont obtenus à partir d'œufs issus de foies broyés le jour même, soigneusement lavés, et mis à éclore dans 3 à 4 ml d'eau de source sous lumière artificielle à 27° C pendant 30 minutes. Les miracidiums sont prélevés à la pipette et répartis dans 9 cupules (Nunc) à raison de 150 miracidiums par cupule.

Souris

Trois groupes de souris Swiss ont été utilisés :

- des souris n'ayant pas été en contact avec le parasite (souris neuves),
- des souris infestées par l'injection sous cutanée de 150 cercaires, après 11 semaines d'évolution (souris parasitées),
- des souris sensibilisées par l'injection intrapéritonéale de 1 500 œufs, après 21 jours d'évolution.

Les souris reçoivent dans la veine de la queue 0,2 ml d'une suspension d'œufs à 20 000 œufs/ml, soit 4 000 œufs par souris. Les œufs suivent le courant sanguin jusqu'aux poumons où ils restent bloqués et où ils provoquent la formation de granulomes (26).

Mesure des granulomes

Les souris sont sacrifiées à l'éther au bout de 12 jours. Les lobes pulmonaires sont traités selon les méthodes de l'histologie classique. Des coupes sérieuses de 8 µm d'épaisseur sont réalisées et les lames sont colorées à l'hémalum-éosine. Les lames sont observées au microscope à l'objectif × 4 et les granulomes mesurés au micromètre oculaire avec un objectif × 10. Pour chaque souris 3 des 5 lobes pulmonaires ont été examinés (les mêmes 3 lobes pour chaque souris) par environ 400 coupes sérieuses, soit 3 600 coupes pour chaque lot. Travaillant sur des coupes sérieuses, chaque granulome n'a été mesuré qu'une seule fois et la mesure a été effectuée sur l'épaisseur la plus importante de ce granulome.

* Nous remercions le Dr Chevalerey qui nous a fourni le liquide d'ascite contenant cet anticorps (Centre de Transfusion Sanguine de Bordeaux. Directeur : Dr Vezon).

EXPÉRIENCES RÉALISÉES

Quatre séries d'expériences sont réalisées :

a) Étude de la modulation du granulome par l'anticorps monoclonal chez la souris sensibilisée

Deux lots de 3 souris ont été constitués à partir de souris au 21^e jour de sensibilisation après injection intrapéritonéale de 1 500 œufs. Les 2 lots reçoivent 4 000 œufs par voie intraveineuse; l'un des 2 lots reçoit tous les deux jours 2 mg de l'anticorps monoclonal étudié purifié par voie intrapéritonéale. Les souris sont sacrifiées au bout de 12 jours d'évolution; les poumons sont fixés, coupés et l'épaisseur des granulomes mesurée.

b) Étude de la modulation du granulome par l'anticorps monoclonal chez la souris neuve

Deux lots de 3 souris sont constitués. Les 2 lots reçoivent 4 000 œufs par voie intraveineuse; l'un des 2 lots reçoit tous les deux jours 0,5 ml d'ascite contenant l'anticorps monoclonal étudié par voie intrapéritonéale; l'autre lot reçoit, également par voie intrapéritonéale, 0,5 ml d'ascite contenant un anticorps monoclonal de spécificité différente; il s'agit d'une IgM de souris dirigée contre la spécificité de groupe sanguin AB*. Les souris sont sacrifiées au bout de 12 jours d'évolution; les poumons sont fixés, coupés et l'épaisseur des granulomes mesurée.

c) Étude de la modulation du granulome par l'anticorps monoclonal chez la souris parasitée

Deux lots de 3 souris sont constitués à partir de souris à la 11^e semaine d'infestation après injection sous cutanée de 150 cercaires. L'injection des œufs et des deux anticorps monoclonaux est réalisée comme précédemment.

d) Étude in vitro de l'action de l'anticorps monoclonal sur la viabilité du miracidium

Une suspension de miracidiums est répartie dans 9 cupules (Nunc) à raison de 150 miracidiums par cupule sous un volume de 300 µl. Dans 3 de ces cupules, 100 µl d'une solution à 5 mg/ml de l'anticorps monoclonal IgM étudié (en NaCl 0,15 M) sont ajoutés. Les cupules témoins sont représentées, d'une part par 3 cupules dans lesquelles sont ajoutés 100 µl d'une solution d'un anticorps monoclonal IgM de spécificité anti-AB précédemment décrit, à 5,7 mg/ml (en NaCl 0,15 M), d'autre part par 3 cupules dans lesquelles sont ajoutés 100 µl de NaCl 0,15 M. L'observation des miracidiums dans les 9 cupules est effectuée tous les 1/4 d'heures pendant 2 heures à 27° C.

RÉSULTATS

a) Étude de la modulation du granulome par l'anticorps monoclonal chez la souris sensibilisée

L'épaisseur moyenne des granulomes pulmonaires autour des œufs chez les souris sensibilisées ayant reçu l'anticorps monoclonal est de 73,6 µm ± 25,1 µm contre 112,5 µm ± 41,6 µm chez les témoins sans anticorps. Les souris ayant reçu l'anticorps monoclonal étudié ont développé des granulomes de taille très nettement inférieure aux souris sans anticorps ($p < 0,0001$, $t = 11,274$, ddl = 469) (fig. 1).

FIG. 1. — Diminution de l'épaisseur moyenne des granulomes, chez des souris sensibilisées, ayant reçu des œufs par voie intraveineuse, après administration intrapéritonéale de l'anticorps monoclonal anti-*Schistosoma mansoni*.

FIG. 2. — Diminution de l'épaisseur moyenne des granulomes chez des souris neuves, ayant reçu des œufs par voie intraveineuse, après administration intrapéritonéale de l'anticorps monoclonal anti-*Schistosoma mansoni*, par rapport à un anticorps anti-AB.

b) *Étude de la modulation du granulome par l'anticorps monoclonal chez la souris neuve*

L'épaisseur moyenne des granulomes pulmonaires autour des œufs chez les souris neuves ayant reçu l'anticorps monoclonal étudié est de $48,2 \mu\text{m} \pm 20,6 \mu\text{m}$ contre $114,7 \mu\text{m} \pm 34,5 \mu\text{m}$ chez les souris ayant reçu un anticorps anti-AB. Les souris neuves ayant reçu l'anticorps monoclonal étudié ont développé des granulomes de taille très nettement inférieure aux souris ayant reçu un anticorps anti-AB ($p < 0,0001$, $t = 13,384$, $\text{ddl} = 146$) (fig. 2).

c) *Étude de la modulation du granulome par l'anticorps monoclonal chez la souris parasitée*

L'épaisseur moyenne des granulomes pulmonaires autour des œufs chez les souris parasitées ayant reçu l'anticorps monoclonal étudié est de $57,7 \mu\text{m} \pm 26,3 \mu\text{m}$ contre $90,1 \mu\text{m} \pm 37,7 \mu\text{m}$ chez les souris ayant reçu un anticorps anti-AB. Les souris parasitées ayant reçu l'anticorps monoclonal étudié ont développé des granulomes de taille très nettement inférieure aux souris ayant reçu un anticorps anti-AB ($p < 0,0001$, $t = 11,188$, $\text{ddl} = 541$) (fig. 3).

Ces trois séries de résultats sont rassemblés dans le tableau I.

d) *Étude in vitro de l'action de l'anticorps monoclonal sur la viabilité du miracidium*

L'anticorps monoclonal étudié a une action létale directe sur les miracidiums : dans les cupules contenant l'anticorps monoclonal tous les miracidiums sont morts au bout d'1 h 45 mn, tandis qu'ils restent encore vivaces dans les cupules témoins (tableau II).

FIG. 3. — Diminution de l'épaisseur moyenne des granulomes chez des souris parasitées, ayant reçu des œufs par voie intraveineuse, après administration intrapéritonéale de l'anticorps monoclonal anti-*Schistosoma mansoni*, par rapport à un anticorps anti-AB.

TABLEAU I. — Effet de l'anticorps monoclonal anti-*Schistosoma mansoni* de classe IgM sur l'épaisseur des granulomes périovulaires chez la souris.

	souris neuves		souris parasitées		souris sensibilisées	
	témoins	traitées	témoins	traitées	témoins	traitées
total des granulomes mesurés	88	60	311	232	274	177
moyenne(μm)	114,7	48,2	90,1	57,7	112,5	73,6
écart-type(μm)	34,5	20,6	37,7	26,3	41,6	25,1

TABLEAU II. — Étude in vitro de l'action de l'anticorps monoclonal anti-Schistosoma mansoni sur la viabilité du miracidium. Une suspension de 150 miracidiums est mise en présence d'une part de l'anticorps monoclonal étudié et d'autre part d'un anticorps monoclonal anti-AB de même isotype (IgM). Une suspension témoin est étudiée parallèlement en l'absence d'anticorps.

temps d'observation en minutes	Pourcentage moyen de miracidiums morts		
	Anticorps monoclonal anti <i>Schistosoma</i> <i>mansoni</i>	Anticorps monoclonal anti AB	Suspension témoin
0	0	0	0
15	10,5	6,2	4,5
30	10,6	10,2	10,4
45	15,3	12,6	12,9
60	65,5	18,8	17,0
90	98,8	22	19,1
105	100	24,8	20

DISCUSSION

La principale cause de la morbidité due à *Schistosoma mansoni* est le granulome inflammatoire qui se développe autour des œufs disséminés dans les tissus (27), principalement le foie et le tractus digestif, bien que d'autres localisations soient possibles; rein, poumon (1), système nerveux central. Le développement des réactions granulomateuses, en particulier dans le foie, évoluant vers la fibrose, peut entraîner une destruction marquée du parenchyme hépatique avec hypertension portale et toutes ses conséquences (6). Les antigènes sécrétés par l'œuf de *Schistosoma mansoni* sont responsables de cette réaction. Le granulome évolue ensuite dans le temps vers une diminution de sa taille par l'intervention de différents facteurs de modulation tant cellulaires qu'humoraux.

L'anticorps monoclonal utilisé dans ce travail (2) est une IgM dirigée contre un épitope de nature glucidique présent au niveau de l'épithélium intestinal du ver adulte, ainsi qu'au niveau des autres stades évolutifs du parasite au niveau de l'œuf où il est très abondant. Injecté à la souris, il diminue la réaction granulomateuse périovulaire tant chez la souris neuve, n'ayant jamais été en contact avec le parasite, que chez la souris infestée par l'injection sous cutanée de 150 cercaires, ou chez la souris sensibilisée par l'injection intrapéritonéale d'œufs. Simpson *et al.* (22, 23) ont également étudié l'effet d'un anticorps monoclonal de classe IgM dirigé contre une fraction polysaccharidique du SEA (soluble egg antigen) sur l'évolution du granulome périovulaire provoqué au niveau du poumon de souris. Ils ont observé que l'effet de l'anticorps étudié était d'augmenter la taille des granulomes par rapport à un groupe témoin sans anticorps comme par rapport à un groupe témoin recevant un anticorps de spécificité non bilharzienne. Deux anticorps monoclonaux de même classe, dirigés tous les deux contre un antigène ovulaire, permettent donc d'observer des modifications opposées de la réaction granulomateuse.

Mais il faut savoir que les antigènes ovulaires sont d'une grande complexité. Le granulome bilharzien est centré

autour de l'œuf de *Schistosoma mansoni*. Quand il est déposé dans les tissus, l'œuf est vivant et contient le miracidium qui sécrète des antigènes à travers les pores de la coque de l'œuf (25). De nombreuses équipes ont étudié la fraction soluble des antigènes de l'œuf de *Schistosoma mansoni* et ont tenté d'en isoler les différentes composantes pour déterminer leurs capacités antigéniques respectives.

Il est aisé d'obtenir l'antigène brut (SEA) en broyant des œufs en eau physiologique. A partir du SEA, différentes méthodes physicochimiques permettent d'individualiser un certain nombre de composantes (9). Le SEA est composé de protéines, de polysaccharides et de glycoprotéines. Il est capable d'entraîner une lymphoprolifération et une production de lymphokines *in vitro* (12). Cet extrait est très hétérogène et comporte des constituants dont les poids moléculaires s'étendent entre 10 et 200 KDa. Une électrophorèse en SDS-polyacrylamide montre au moins 20 bandes de protéines différentes (16). Parmi les antigènes issus du SEA, certaines glycoprotéines semblent jouer un rôle majeur (Major Soluble Antigens: MSA; 20). Le fractionnement de l'antigène brut par une chromatographie d'affinité sur concanavaleine A suivie d'une chromatographie d'échanges d'ions sur DEAE-cellulose permet d'individualiser 3 fractions: MSA1, MSA2, MSA3 (10). Un anticorps monoclonal dirigé contre le MSA1 donne lieu au phénomène de précipitation périovulaire observé il y a de nombreuses années par Oliver-Gonzales (19) avec des sérums de sujets bilharziens riches en anticorps. Le MSA1 est capable de provoquer la formation d'un granulome chez la souris neuve. L'anticorps monoclonal étudié dans ce travail, dirigé contre un épitope de nature polysaccharidique, ne donne pas lieu au phénomène de précipitation périovulaire; il ne réagit pas non plus avec le MSA1.

D'autres antigènes de *Schistosoma mansoni* ont pu être identifiés, soit à l'aide de diverses méthodes physicochimiques à partir du SEA (7, 14, 17, 18, 20), soit à l'aide d'anticorps monoclonaux (13, 24, 28). Beaucoup d'épitopes reconnus par les anticorps monoclonaux se situent au niveau des schistosomules, mais certains sont également présents au niveau d'autres stades évolutifs du parasite, en particulier au niveau de l'œuf. Le rôle éventuel de ces antigènes dans le déclenchement de la réaction granulomateuse n'a pas été précisé.

Il est intéressant de rapprocher la diminution de la réaction granulomateuse observée au cours des expériences présentées dans ce travail de celle qui se manifeste lors de l'évolution naturelle du granulome bilharzien chez l'animal expérimentalement infesté. L'évolution se fait en deux phases par l'intervention de facteurs de modulation tant cellulaires qu'humoraux (27). Dans le modèle murin, on observe une phase aiguë 8 à 10 semaines après l'infestation où le granulome, de grande dimension, est constitué essentiellement par un afflux cellulaire en particulier de polynucléaires éosinophiles, suivie d'une phase chronique

plus tardive qui débute à la 12^e semaine jusqu'à la 18^e-20^e semaine où le granulome, de plus petite taille, est constitué de lymphocytes et de fibroblastes. De plus, à la phase chronique de l'infestation, les granulomes sont uniformément de petite taille et la réaction inflammatoire développée autour des œufs nouvellement déposés dans les tissus à cette phase est nettement moins intense que celle observée à la phase aiguë de la parasitose. La réaction granulomateuse est une réaction d'hypersensibilité retardée où des phénomènes de modulation cellulaire vont intervenir (9). Les lymphocytes T auxiliaires CD4 sont responsables des manifestations d'hypersensibilité observées dans la phase aiguë granulomateuse; ils sont présents au centre du granulome lors de la phase aiguë; le SEA, présenté par les macrophages aux lymphocytes T CD4, entraîne une activation de ces cellules. C'est à la phase chronique qu'interviendraient les lymphocytes T suppresseurs CD8. Leur action serait une des causes de la limitation de la réaction granulomateuse (15).

Des études récentes semblent montrer qu'interviendraient également des phénomènes de régulation par la mise en jeu du réseau idiotypique (4). On pourrait émettre l'hypothèse d'une interférence de l'anticorps monoclonal étudié avec le réseau idiotypique pour expliquer la diminution du granulome chez la souris.

Mais le premier facteur de modulation de la réaction inflammatoire semble être la mort du miracidium : la durée de vie du miracidium à l'intérieur de l'œuf qui vient d'être déposé dans les tissus est limitée à quelques jours. Quand l'œuf est mort, il n'y a plus de sécrétion d'antigènes et le granulome régresse. Or l'anticorps monoclonal isolé dans notre laboratoire est capable d'exercer une action léthale directe sur des miracidiums en suspension *in vitro*. Il apparaît légitime de se demander si cette action léthale a la possibilité de s'exercer *in vivo* vis-à-vis du miracidium qui est alors protégé par la coque de l'œuf. La microscopie électronique a révélé à ce niveau l'existence de nombreux pores (22) par lesquels s'effectue la libération d'antigènes sécrétés par l'embryon et responsables de la formation des granulomes. Certaines composantes de ce matériel antigénique sont représentées par des polysaccharides dont le Poids Moléculaire peut avoisiner celui des IgM. Par ailleurs, il a été montré récemment que des anticorps monoclonaux appartenant à différents isotypes sont capables de diminuer la viabilité de l'œuf (11, 29).

L'anticorps monoclonal IgM que nous étudions montre des propriétés effectrices diverses : nous avons précédemment montré son pouvoir bloquant sur l'immunité vis-à-vis des schistosomules (3); les résultats rapportés dans le présent travail sont au contraire en faveur d'une action diminuant la viabilité du miracidium. Il est connu qu'un même effecteur peut entraîner parfois des effets opposés pour l'hôte. C'est le cas ici et il est particulièrement intéressant de noter que l'anticorps monoclonal utilisé n'a pas

été obtenu par l'immunisation d'un animal par l'injection d'un extrait antigénique, mais par sélection d'un clone lymphocytaire à partir de souris hébergeant le parasite. L'intervention d'un tel mécanisme lors de l'infestation naturelle peut donc être raisonnablement envisagé.

RÉFÉRENCES

1. Andrade Z. A., Andrade S. G. : Pathogenesis of schistosomal pulmonary arteritis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1970, 19, 305-310.
2. Appriou M., Tribouley-Duret J., Tribouley J. : Étude par la réaction d'immunofluorescence des anticorps dirigés contre les antigènes de l'épithélium intestinal de *Schistosoma mansoni*. III. Étude de la réactivité d'un anticorps monoclonal. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1986, 61, 435-446.
3. Appriou M., Ben Younes R., Tribouley-Duret J., Tribouley J. : Étude par la réaction d'immunofluorescence des anticorps dirigés contre les antigènes de l'épithélium intestinal de *Schistosoma mansoni*. IV. Étude du pouvoir bloquant sur l'immunité d'un anticorps monoclonal de classe IgM. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1989, 64, 456-468.
4. Auriault C., Velge-Roussel F., Mazingue C., Capron A. : Le réseau idiotypique et la sélection isotypique. Incidence sur la mise au point d'un protocole vaccinal. *Med. Sci.*, 1992, 8, 541-547.
5. Baltz T., Lacassie I., Tribouley-Duret J., Tribouley J. : Density gradient separation of *Schistosoma mansoni* eggs. *J. Parasitol.*, 1982, 68, 963-965.
6. Bloch E. H., Abdel-Wahab M. F., Warren K. S. *In vivo* microscopic observation of the pathogenesis and pathophysiology of hepatosplenic schistosomiasis in the mouse liver. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1972, 21, 546-557.
7. Boctor F. N., Nash T. E., Cheever A. W. : Isolation of polysaccharide antigen from *Schistosoma mansoni* eggs. *J. Immunol.*, 1979, 122, 39-43.
8. Boros D. L. : Schistosomiasis mansoni : a granulomatous disease of cells mediated immune etiology. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1974, 36, 278.
9. Boros D. L. : Immunopathology of *Schistosoma mansoni* infection. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1989, 2, 250-269.
10. Butterworth A. E. *et al.* : Immunity in human schistosomiasis mansoni : prevention by blocking antibodies of the expression of immunity in young children. *Parasitology*, 1987, 94, 281-300.
11. Butterworth A. E. : Vaccines against schistosomiasis: where do we stand? *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1992, 86, 1-2.
12. Colley D. G., Hienry S. E., Bartholomew R. K., Cook J. A. : Immune responses during human schistosomiasis mansoni. III. Regulatory effect of patient sera on human lymphocyte blastogenic response to schistosomal antigen preparations. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1977, 26, 917-925.
13. Dresden M. H., Sung C. K., Deelder A. M. : A monoclonal antibody from infected mice to a *Schistosoma mansoni* egg proteinase. *J. Immunol.*, 1983, 130, 1-3.
14. Dunne D. W., Lucas S., Bickle Q., Pearson S., Madgwick L., Baim J., Doenhoff M. J. : Identification and partial purification is putatively hepatotoxic in T cell deprived mice. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1981, 75, 54-71.
15. Fidel P. L., Boros D. L. : Regulation of granulomatous inflammation in murine Schistosomiasis. V. Antigen-induced T cell-derived suppressor factors down-regulate proliferation and IL-2 but not IL-4, production by CD4⁺ effector T cells. *J. Immunol.*, 1991, 146, 1941-1948.

16. Harrison D. J., Carter C. E., Colley D. G. : Immunoaffinity purification of *Schistosoma mansoni* soluble egg antigens. *J. Immunol.*, 1979, 122, 2210-2217.
17. Lukacs N. W., Boros D. L. : Splenic and granuloma T-Lymphocyte responses to fractionated soluble egg antigens of *Schistosoma mansoni*-infected mice. *Infect. Immun.*, 1991, 59, 941-948.
18. Lustigman S., Mahmoud A. A. F., Hamburger J. : Glycopeptides in soluble egg antigens of *Schistosoma mansoni* : isolation, characterisation and elucidation of their immunochemical and immunopathological relation to the major egg glycoprotein (MEG). *J. Immunol.*, 1985, 134, 1961-1967.
19. Oliver-Gonzales J. : Anti-eggs precipitins in the serum of human infected with *Schistosoma mansoni*. *J. Infect. Dis.*, 1954, 95, 86-91.
20. Owhashi M., Horil Y., Imai J., Ishii A., Nawa Y. : Purification and physicochemical characterization of *Schistosoma mansoni* egg allergen recognized by mouse sera obtained at an acute stage of infection. *Int. Arch. Allergy. Appl. Immunol.*, 1986, 81, 129-135.
21. Pelley R. P., Pelley R. J., Hamburger J., Peters P. A., Warren K. S. : *Schistosoma mansoni* soluble egg antigens. I. Identification and purification of 3 major antigens, and the employment of radioimmunoassay for their further characterization. *J. Immunol.*, 1976, 117, 1553-1560.
22. Race G. J., Martin J. H., Moore D. V., Larsh J. E. Jr. : Scanning and transmission electron-microscopy of *Schistosoma mansoni* eggs, cercariae and adults. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1971, 20, 914-924.
23. Simpson A. J. G., Yi X., Lillywhite J., Ali P. O., Kelly C. G., Mott R., Smithers S. R., Oliveira R. C., Katz N., Rumjanek F., Hagan P. : Dissociation of antibody responses during human schistosomiasis and evidence for enhancement of granuloma size by anti-carbohydrates IgM. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1990, 84, 808-814.
24. Simpson A. J. G. : Schistosome surface antigens: developmental expression and immunological function. *Parasitology Today*, 1990, 6, 40-48.
25. Smith M. A., Clegg J. A., Snary D., Trejdosieqvicz A. J. : Passive immunisation of mice against *Schistosoma mansoni* with and IgM monoclonal antibody. *Parasitology*, 1982, 84, 83-91.
26. Stenger R. J., Warren K. S., Johnson F. A. : An ultrastructural study of hepatic granulomas and schistosome egg shells in murine hepatosplenic schistosomiasis mansoni. *Exp. J. Pathol.*, 1967, 8, 116-132.
27. Von Lichtenberg F. : Host response to eggs of *Schistosoma mansoni*. I. Granuloma formation in the unsensitized laboratory mouse. *Am. J. Pathol.*, 1962, 41, 711-731.
28. Warren K. S. : The secret of immunopathogenesis of schistosomiasis; *in vivo* models. *Immunol. Rev.*, 1982, 61, 189-213.
29. Xu C. B., Verwaerde C., Grzych J. M., Fontaine J., Capron A. : A monoclonal antibody blocking the *Schistosoma mansoni*. 28-kDA Gluthathion-S-Transferase activity reduces female worm fecundity and egg viability. *Eur. Immunol.*, 1991, 21, 1801-1807.
30. Zodda D. M., Phillips S. M. : Monoclonal antibody-mediated protection against *Schistosoma mansoni* infection in mice. *J. Immunol.*, 1982, 129, 2326-2328.